Эффекты накопления загрязнителей в почвообитающих организмах

Бутовский Р.О.,Фонд «Устойчивое развитие»

Введение

Концентрации загрязнителей, обнаруживаемые в почвообитающих организмах, определяются балансом между их приемом, разложением (деградацией) и выведением (экскрецией). Очевидно, что степень выраженности этих процессов будет различной как у отдельных видов почвообитающих организмов, так и у комплексов, населяющих почвенные экосистемы.

1. Воздействие органических загрязнителей на почвообитающие организмы

1.1. ПАУ (Полиароматические углеводороды)

В отличие от водной среды, в которой коэффициенты накопления составляют от 100 для нафталина до 10 тыс. для бензоантрацена (Southworth и др., 1978), сведения о *бионакоплении* (способность организма накапливать соединение из окружающей среды) или *биоумножении* (способность вещества накапливаться по трофической цепи, возрастающее на более высоких трофических уровнях) каких бы то ни было ПАУ наземной биотой отсутствуют. Rhett и др. (1988) не обнаружили накопления 22 ПАУ червями *Eisenia fetida* в 6 типах загрязненных канадских почв. Суммарный коэффициент накопления ($К_н$, отношение содержания загрязнителя в животных к содержанию загрязнителя в окружающей среде) ПАУ составлял 0,2-0,6. Pathirana и др. (1994) не обнаружили заметных концентраций ПАУ у беспозвоночных в придорожных экосистемах. Суммарные концентрации разных ПАУ в почве и подстилке составляли 0,5 и 1,3 мг/кг, причем фенантрен, бензо(к)фторантен, пирен и хризен были наиболее стречаемыми. В улитке *Casuarina littorina* суммарная концентрация ПАУ составляла 0,441 мг/кг. Основными компонентами были пирен, хризен и бензо(к)фторантен. Концентрации (в мг/кг) обнаруженные в других беспозвоночных составляли: в слизне 0,072; двух видах жуков 0,092 и 0,059; многоножке 0,067 и дождевом черве 0,147. Беспозвоночные в наибольшей степени накапливали пирен, а фенантрен в меньшей степени, чем остальные ПАУ.

Holoubek и др. (1990) обнаружили, что дождевые черви могли накапливать фенантрен, аценафтен, бензопирен, пирен, антрацен, хризен и фторен, но обычно 2-3 вида ПАУ в одной точке отбора проб. Концентрации различных ПАУ в червях варьировались от 40 до 1875 мг/кг. В отдельных случаях наблюдали бионакопление, причем значения коэффициентов бионакопления могли достигать 2,5. Концентрации ПАУ в червях превышали на некоторых участках 100 мкг/г, в то время как ПАУ не обнаруживали в почве, но находили в подстилке. Это указывает на то, что, по крайней мере, у некоторых видов червей путь поступления ПАУ в организм с пищей является основным.

Gile и др. (1982) показали, что меченые радиоактивными изотопами фенантрен и аценафтен распространялись в почве и почвенных организмах в очень слабой степени. Концентрации ПАУ в сверчках и улитках, живущих на поверхности почвы и питающихся растительным материалом, были достоверно ниже, чем концентрации в почвообитающих дождевых червях. Последние могли накапливать фенатрен и аценафтен из почвы с $К_н$ 30 и 60 соответственно, при этом не погибая.

Таким образом, можно заключить, что некоторые ПАУ обладают способностью к бионакоплению.

При этом возможность биоумножения любых ПАУ неоднозначна в связи с высоким уровнем метаболизма и/или экскреции у консументов (van Brummelen, 1993).

В водной среде некоторые первичные консументы могли накапливать ПАУ в высоких концентрациях (van Hattum, 1995), но их содержание в хищниках оставалось невысоким (Clements и др., 1994; Lemaire и др., 1992). Отсутствие биоумножения может

быть результатом способности хищников разлагать ПАУ (Neff, 1979), и, хотя скорость метаболизма ПАУ ниже у беспозвоночных животных по сравнению с позвоночными, ПАУ были обнаружены у моллюсков, коралловых полипов, полихет, ракообразных, насекомых и иглокожих (Arbeidsrapport fra Miliostyrelsen, 1995).

1.2. Бенз(а)пирен

Бензапирен обладает высокой липофильностью, поэтому он легко проникает через клеточные стенки или кутикулу беспозвоночных. Немногие авторы обнаружили значительное бионакопление, причем обычно коэффициенты накопления были ниже 0,1. Это может быть связано со значительной сорбцией бенз(а)пирена почвой и/или высоким уровнем метаболизма бенз(а)пирена, обнаруживаемым у многих организмов.

Holoubek и др. (1990) изучили почвенную биоту в городе и двух сельских районах Чехословакии и обнаружили, что концентрации в почве составляли от 0,001 до 0,94 мг/кг. При этом концентрации в дождевых червях (6 видов) варьировались от концентрации ниже уровня определения (< 0,0001 мг/кг) до 1,875 мг/кг. Бионакопление различалось в зависимости от типа почвы, причем $К_н$ варьировали от 0,001 до 2,8. Van Brummelen и др. (1991) не обнаружили накопления бенз(а)пирена изоподой *Porcellio scaber*. Rhett и др. (1988) не обнаружили заметного накопления данного токсиканта дождевым червем *Eisenia fetida* на 6 загрязненных канадских почвах ($К_н$ = 0,25-0,85).

В связи со способностью многих организмов экскретировать и метаболизировать бенз(а)пирен, его биоумножение было незначительным. Снижение концентрации бенз(а)пирена с ростом трофического уровня может быть связано со слабым приемом или отсутствием приема через пищу и/или усилением способности к метаболизму на более высоких уровнях (Broman и др., 1990). Даже у близкородственных животных способность к метаболизму бенз(а)пирена может заметно варьироваться (Reichert и др., 1985). Вместе с тем предлагается изучить общее поступление бенз(а)пирена и его метаболитов в организм для того, чтобы исключить эффекты вторичного отравления, поскольку многие из этих метаболитов обладают повышенным мутагенным и канцерогенным эффектом и, как было показано, могут накапливаться и в дальнейшем метаболизироваться в хищниках (McElroy, Bisson, 1993).

1.3. Пентахлорфенолы

У двух видов дождевых червей коэффициенты накопления ($К_н$) хлорфенола (Х) составляли 0,4-16 (Van Gestel и Ma, 1988). Во многих случаях у *Eisenia fetida* и всегда у *Lumbricus terrestris* $К_н$ превышал 1. Закономерностей в накоплении не выявлено, хотя $К_н$ у *E.fetida* составлял 3,4-5,3 а у *L.terrestris* мог возрасти до 16, что было в 4 раза выше, по сравнению с пентахлорфенолом (ПХФ).

Червей *Aporrectodea caliginosa* и *Lumbricus rubellus* отбирали на контрольном участке и подвергали воздействию 2,3,4,6-тетра-хлорфенола в лабораторных условиях. Коэффициенты накопления для обоих видов были одинаковыми (около 30). На загрязненном участке *A.caliginosa* накапливал в 4-5 раз больше хлорфенола, чем *L.rubellus*, но коэффициенты накопления были ниже (около 10).

Gruttke и др. (1988) смоделировали пищевую цепь и проследили пути миграции радиоактивно меченого ПХФ. Модель включала 3 трофических уровня: дрожжи, коллембол и жужелиц. Коллемболе *Folsomia candida* скармливали дрожжи, в которых концентрация ПХФ составляла 870 мг/кг. Через 20 дн. в их организме наблюдали снижение содержания ПХФ с 380 мг/кг до 10 мг/кг. При питании жужелиц коллемболами, содержащими 380 мг/кг ПХФ, наблюдалось увеличение их концентрации в теле жужелиц до 4,5 мг/кг через 4 дня, но, несмотря на это, концентрация ПХФ в их теле не превысила 5 мг/кг. Это было связано с усиленным выведением ПХФ жуками. Через 4 сут. после последней экспозиции концентрация токсиканта снижалась до 0,39 мг/кг.

Lu и др. (1978) также использовали ПХФ, меченый по C_{14}, в модельной наземной экосистеме. Через 20 суток 51% токсиканта обнаруживалось в воздухе, 48% в почве и только 1% - в биоте (дождевые черви, слизни, мокрицы, гусеницах медведицы, полевки). В системе почва-растение-грызуны начальная концентрация в почве (1,25 мг/кг) снижалась до 0,63 мг/кг, причем интактный ПХФ составлял до 19%. Кукуруза, выращенная на загрязненной почве, содержала ПХФ и через 14 сут. после обработки. Общая концентрация составляла 6,30 мг/кг, причем интактный ПХФ составлял 16%. Полевка питалась практически всеми видами животных и растений в экосистеме, но через 5 суток она содержала только 0,5% от потребленного ПХФ. Концентрация в теле не превышала 0,53 мг/кг, причем 7% составлял интактный ПХФ. Самые высокие концентрации обнаруживали в печени (1,5 мг/кг) и кишечнике (1,1 мг/кг).

В опытах Haque и др. (1988) ПХФ применяли в дозе 500 мг/ $м^2$. Через 131 день в экосистеме оставалось 43% от внесенного ПХФ, причем большая часть обнаруживалась в верхнем слое почвы и растительном опаде. Концентрации в животных составляли: в улитках 6,8 мг/кг, мокрицах 8,8, коллемболах 105,5, жуках 13,6, пауках 13,1 и дождевых червях 9,3 мг/кг. В то же время концентрации в растительном опаде варьировали от 47 до 286 мг/кг. На 19-е сутки $К_н$ варьировали от 0,002 до 0,34. Низкие значения $К_н$ были связаны с высоким уровнем метаболизма и быстрым выведением ПХФ из организмов. При этом плотность популяций членистоногих не изменялась.

В целом можно заключить, что ПХФ и другие Х не накапливаются по трофическим цепям, вероятно, в связи эффективным разложением и выведением.

1.4. Анионные поверхностно-активные вещества (АПАВ)

Гидрофобность АПАВ является основным фактором, влияющим на бионакопление. Чем длиннее алкильная цепь, тем выше гидрофобность и $К_н$. Эксперименты, проведенные на рыбе и дафнии, показали, что значения $К_н$ линейных алкилбензеновых сульфонатов (ЛАС) составляли 100-227 для рыбы и 50-696 для дафнии, в то время как $К_н$ для двух видов рыб составлял примерно 7. Вероятно существование бионакопления АПАВ почвенными организмами, но проблема недостаточно изучена (Arbeidsrapport…, 1995).

1.5. Механизмы устойчивости к органическим загрязнителям

Хорошо выраженная способность к биотрансформации загрязнителей у наземных беспозвоночных может объяснить, почему не все стойкие соединения накапливаются по пищевым цепям. Это, например, происходит в случае с полиароматическими углеводородами (ПАУ). При непрерывном выпадении с атмосферными осадками и в связи с их стойкостью при адсорбции мертвым органическим веществом, эти соединения накапливаются в верхнем слое лесных почв. Сапротрофные животные (черви, мокрицы), питающиеся на поверхности почвы, подвержены воздействию ПАУ в высоких концентрациях, но, вероятно, имеют эффективную метаболическую систему, благодаря которой внутренние концентрации поддерживаются на низком уровне (рис. 1).

Поскольку это снижение концентрации наблюдается на самом низком трофическом уровне, ПАУ не накапливаются по пищевым цепям. Экологические причины усиленного метаболизма ПАУ сапротрофами до сих пор не ясны. К тому же известно, что во многих случаях промежуточные продукты метаболизма ПАУ являются более токсичными, чем исходные соединения.

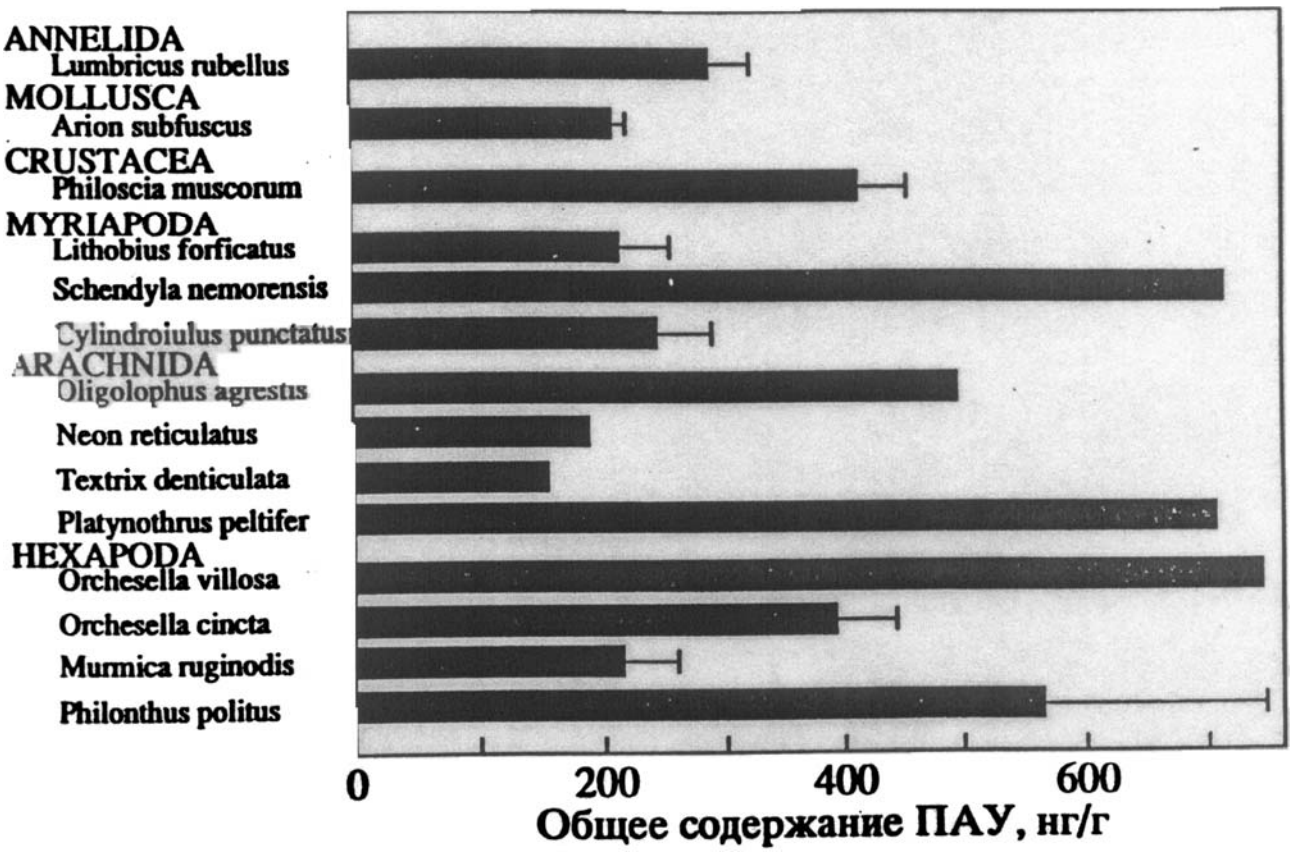

Рис. 1. Концентрации полиароматических углеводородов (ПАУ) в различных видах почвенных беспозвоночных. Общее содержание ПАУ представляет сумму 10 определенных соединений (по Van Straalen et al., 1987).

2. Воздействие неорганических загрязнителей на почвообитающие организмы

2.1. Содержание тяжелых металлов

Содержание тяжелых металлов в почвообитающих организмах достаточно полно изучено (Покаржевский, 1987; Бутовский, 2001).

Часто интенсивность накопления и содержание тяжелых металлов в высоких концентрациях отмечаются у организмов с высокоэффективной системой детоксикации. Вероятно, поэтому представляется закономерным обнаружение наибольших концентраций металлов в животных, имеющих развитые гепатопанкреатические железы, например, у ракообразных и паукообразных (Бутовский, 2001).

Сравнительный анализ устойчивости членистоногих к кадмию - одному из самых токсичных элементов, позволил выделить две группы животных: с высоким и низким его содержанием. Изоподы и членистоногие морфологически паукообразного вида (пауки, гамазовые клещи, сенокосцы, орибатиды сем. Gamisiidae) отнесены к группе с высоким содержанием кадмия. Кроме того, в эту группу вошли губоногие сем. Geophylidae, кивсяки и некоторые коллемболы (табл. 1).

Таблица 1

Накопители и рассеиватели кадмия в комплексе почвенных членистоногих животных (по van Straalen, van Wensem, 1986; van Capelleveen, 1987; Janssen , 1991; Butovsky et al., 1999)

Высокая концентрация кадмия	Низкая концентрация кадмия
Изоподы	Орибатиды сем-ва Notaspididae
Сенокосцы	Губоногие сем-ва Lithobiidae
Пауки линифииды	Энтомобриидные Collembola
Ложноскорпионы	Жужелицы
Гамазовые клещи	Стафилиниды

Орибатиды сем. Camisiidae	Сверчки
Губоногие сем. Geophylidae	Кузнечиковые
Двупарноногие	
Онихиуридные Collembola	

Насекомые ряда семейств, некоторые коллемболы и губоногие, а также клещи орибатиды сем. Notaspididae содержали кадмий в низких концентрациях.

Как видно из проведенного анализа, различия в накоплении определяются не только таксономической принадлежностью животного, о чем свидетельствует обнаружение в пределах одного отряда семейств с различным содержанием кадмия.

Данные по накоплению и выведению кадмия, определяющие его круговорот в комплексе почвообитающих членистоногих, более информативны, чем данные средних концентраций (Van Capelleveen, 1987).

При промышленном и автодорожном воздействиях содержание тяжелых металлов в почвообитающих животных было группо- и видоспецифическим и, вероятно, было обусловлено набором факторов, включающих трофическую специализацию и существование набора адаптаций на организменном, популяционном и системном уровнях (Бутовский, 2001).

Перспективными для индикации уровня загрязненности наземных экосистем тяжелыми металлами, обладающими повышенной способностью к их накоплению являются следующие группы: фитофаги, сапрофаги и некрофаги (Бутовский, 2001).

2.2. Положение организма в трофической цепи

По нашим данным, наименее устойчивые группы встречаются среди консументов I и II порядков (рис. 2). В гипотетических трофических цепях в придорожных агроэкосистемах, жужелицы как неспециализированные хищники, содержали меньше меди и цинка, чем специализированные хищники и паразиты. С нашей точки зрения, отмеченные различия в содержании тяжелых металлов отражали различную степень адаптации хищников к их жертвам, а паразитов - к их хозяевам (Бутовский, 2001).

Касты одного и того же вида социальных насекомых могут содержать различающиеся концентрации металлов. Установлено, что рабочие термиты содержали намного больше цинка и хрома, чем солдаты или царица, не покидающие гнезда (Бутовский, 2001), причем они получали металлы из корма до того, как он скармливался солдатам и царице путем трофаллаксиса. У муравьев концентрация свинца, кадмия и цинка в рабочих особях, получающих металлы с медвяными выделениями тлей, заметно выше, чем в половых особях (Бутовский, 2001). Очевидно, что такая фильтрация загрязнителей скорее представляла собой исключение, чем общее правило, хотя и могла повышать, в целом, устойчивость семей общественных насекомых к загрязнению.

2.3.Механизмы устойчивости к неорганическим токсикантам

В ответ на загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами наблюдается активация биохимических реакций организмов беспозвоночных животных, в конечном итоге способствующий их адаптации к загрязнению. Отмечены: (1) активация различных ферментных систем (прежде всего эстеразного комплекса и кислой фосфатазы), (2) сегрегация металлов в гранулы различными группами белков (металлотионеины, металлосвязывающие белки) или (3) восстановление нарушенных функций клеточных ядер и пре-рибосомального комплекса (белки теплового шока) (Бутовский, 2001).

Обычно различают 4 основных способа защиты организма от воздействия загрязнителей (van Straalen, 1994):

1. Селективные барьеры. Проникновение соединения к биохимическому рецептору связано с необходимостью прохождения через многочисленные мембраны, поскольку организм состоит из органов, клеток и органелл.

2. Внутренние буферы. Связывание соединений в макромолекулы может рассматриваться как буферный механизм, предотвращающий активное свободное концентрирование токсиканта.

3. Гидрофилизация. Многие токсиканты липофильны и с трудом выводятся из организма с водой. Экскреция может быть значительно усилена в результате ферментативных изменений химической структуры молекул (или биотрансформации).

4. Секвестрирование. Некоторые соединения могут откладываться в организме в биологически неактивной форме, в т.ч. во внутриклеточных гранулах, в тканях и т.д.

Вместе с тем, определяющими устойчивость могут оказаться и другие факторы, например, строение пищеварительной и выделительной систем, способ питания, жизненная схема вида, место в трофической (пищевой) цепи и т.д.

Металлсодержащие структуры

Отбор, очевидно, благоприятствовал тому, что у наземных членистоногих выработались механизмы регуляции содержания металлов, требующие наименьших затрат энергии (Hopkin, 1989). Пожизненное хранение в организме нерастворимых гранул оказалось наименее затратным путем решения проблемы до тех пор, пока гранулы не займут такой объем клеток, что станут влиять на их функционирование. Выгоды этого механизма подробно рассмотрены на примере накопления Cd и Cu в наземных изоподах (Hopkin, 1989).

Металлсодержащие гранулы могут быть выведены из организма, если они откладываются в клетках, которые периодически ослизняются и выделяют содержимое в просвет кишечника. Это может происходить в конце каждого пищеварительного цикла [как у пауков и костянок] или при линьке [как у коллембол и гусениц моли при замене выстилки средней кишки] (Joosse, Buker, 1979). При этом металлсодержащие гранулы, запасающиеся в стенке задней кишке членистоногих, могут быть выведены лишь при замене эпителия при линьках. Структурное и функциональное подразделение металлсодержащих гранул приводится в исчерпывающем обзоре Hopkin (1989))(рис. 3).

Способность к формированию гранул типа А имеет преадаптивное значение для некоторых групп наземных беспозвоночных, выживающих в сильно загрязненных цинком местах, хотя этот металл связывается металлотионеинами и гранулами типа В (рис. 3). Детоксикационные функции гранул типа В, очевидно, более выражены по сравнению с типом А. В них находят Cd, Cu, Hg, Zn, Pb, Fe. Их гетерогенное появление в тонком слое стенок кишечника, способность к аккумуляции широкого спектра элементов и присутствие кислой фосфатазы наводят на мысль о том, что они являются производными лизосом. К тому же присутствие большого количества серы связанной с Cd, Cu, Hg, Zn свидетельствует о том, что гранулы типа В содержат большое количество остатков металлотионеинов. Металлотионеины синтезируются в ответ на присутствие Cd, Cu, Hg, Zn внутри клетки и имеют период полураспада в несколько суток. Токсичные металлы такие как Cd и Hg и незаменимые - Cu и Zn, которые проникают в клетки в количествах, превышающих их потребности, могут быть детоксицированы путем включения в гранулы типа В для длительного хранения в нерастворимой форме, или могут быть экскретированы в процессе нормальной клеточной дегенерации и замещения клеток. Гранулы типа В могут встречаться вместе с гранулами типа А.

Гранулы типа С являются полиэдральными включениями с кристаллической структурой. Они богаты железом, похожи на ферритин и являются белками, которые запасают Fe в теле (рис. 3).

Гранулы типа D значительно отличаются от описанных выше. Они являются внеклеточными образованиями, состоят из карбоната кальция и могут быть весьма велики. Тяжелые металлы в них не найдены. Большинство исследователей соглашаются с тем, что они вовлечены в процесс регуляции pH внеклеточных жидкостей, преобразуя диоксид углерода путем изменения каталитической активности карбоангидразы (Hopkin, 1989).

Металлсодержащие белки, в свою очередь, подразделяются на группу белков, связывающих специфические металлы (металлотионеины, ферритин) и группу белков, в состав которых металлы входят в качестве незаменимых компонентов (гемоцианин, гемоглобин и т.д.).

Металлотионеины

Металлотионеины (МТ) являются низкомолекулярными белками, богатыми цистеином (до 30%), хорошо структурно оформленными, с высоким сродством к некоторым ионам

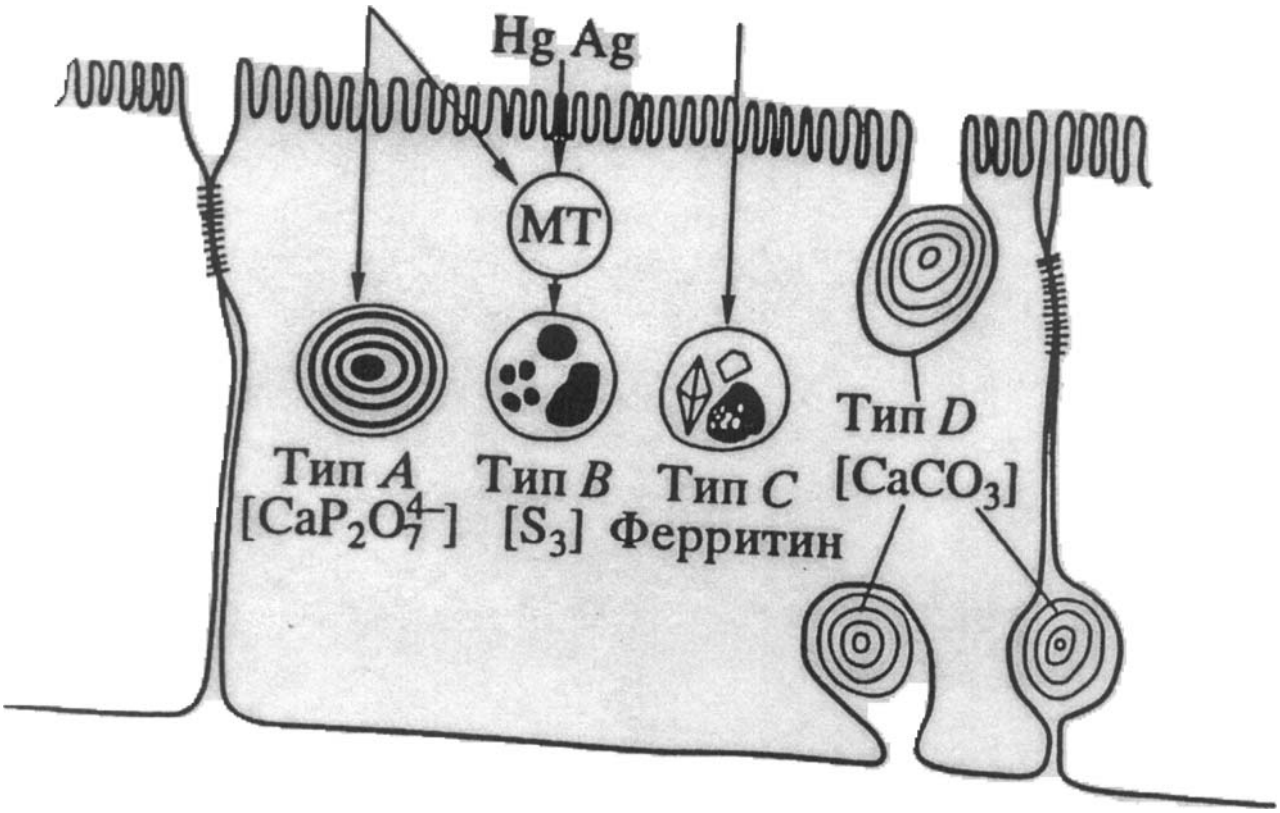

Рис. 3. Схематическое изображение четырех типов металлсодержащих гранул, обнаруженных в средней кишке беспозвоночных животных (по Hopkin, 1989).

металлов, таким как медь, кадмий, цинк (Fowler et al., 1987; Kagi, Schaffer, 1988). Роль этих белков в клеточном метаболизме сложна и многообразна. С одной стороны МТ способствуют клеточному гомеостазу необходимых микроэлементов, таких как медь и цинк (Bremner, Beattie, 1990; Andrews et al., 1991), с другой стороны МТ защищают клетки и организмы от стресса, вызываемого токсичными металлами (Luce et al., 1993). В более широком смысле МТ вовлечены в процесс генной регуляции при клеточном стрессе (Zeng et al., 1991). МТ в настоящее время относятся к большому семейству клеточных стрессовых белков (как и белки теплового шока).

Индуцированные изменения в концентрации МТ в дополнение к экспрессии различных изоформ белков могут быть использованы как биологические маркеры для оценки риска загрязнения металлами или органическими химическими соединениями и связаны с влиянием внешних условий окружающей среды и других биотических факторов (Petering et al., 1990).

Металлосвязывающие белки

Кроме МТ существует множество разных металлосвязывающих белков, которые не могут быть к ним отнесены. Некоторые из этих молекул по структуре являются гликопротеинами и обнаружены в морских брюхоногих моллюсках (Dohi et al., 1983). Металлосвязывающие белки, не относящиеся к МТ, найдены также в олигохетах и насекомых (Clubb et al., 1975). В загрязненных Cd кузнечиках *Ailopus thalassinus* обнаружен связывающий этот металл гликопротеин (Schmidt, Ibrahim, 1994).

Проникновение и запасание в тканях

Внутри клетки незаменимые металлы могут метаболизироваться или включаться в запасающие белки. Контроль проникновения ионов многих металлов [Cu, Zn, Cd, Hg], особенно тех, которые не несут биологической функции [Cd, Hg], невозможен, если эти элементы проникнут через мембрану в неограниченном количестве. В результате стимулируется развитие детоксикационных систем в условиях избытка металлов, которые запасаются и хранятся до тех пор, пока они не смогут быть выведены из организма (Hopkin, 1989).

Ферменты

В метаболизм ксенобиотиков у беспозвоночных вовлечены многочисленные ферментные системы. В основном в литературе встречаются данные по изменению активности ферментов под влиянием инсектицидов и в связи с возникновением к ним резистентности (Рославцева, 2006).

Однако на ферментные системы влияют и тяжелые металлы. Так, установлено влияние тяжелых металлов на эстеразные системы животных.

У пауков описаны два основных детоксикационных фермента – карбоксилэстераза и глутатион-S-трансфераза, нейтрализующие ксенобиотики (Marczyk et al., 1993, Wilczek, Migula, 1996). Wilczek с соавт. (1997) показали, что активность глутатион-S-трансферазы у пауков, живущих в загрязненных местах всегда выше, чем у тех же видов из контрольных местообитаний. Активность другого фермента - карбоксилэстеразы в пауках, собранных в загрязненных местообитаниях, однако, была ниже, чем в контрольных у двух из трех изученных видов (Wilczek et al., 1997).

У насекомых под влиянием $CuSO_4$ полностью угнетаются арилэстеразы (Еремина и др., 1992). Также установлено наличие чувствительных к тяжелым металлам форм карбоксилэстераз у комнатных мух лабораторной расы SRS и резистентных к фосфорорганическим инсектицидам природных популяций (Рославцева, 2006). У природных популяций комнатных мух, характеризующихся высоким уровнем резистентности к ФОС установлена повышенная активность неспецифических эстераз и глутатион-S-трансферазы. Отличия найдены также в активности и чувствительности к ингибиторам холинэстераз, связанные в основном с наличием мембраносвязанных форм. Наибольшие отличия в активности ферментных систем найдены в популяциях, подверженных [помимо инсектицидного пресса] техногенному загрязнению (Еремина и др., 1996).

В условиях загрязнения тяжелыми металлами почв у кузнечика *Ailopus thalassinus* наблюдали уменьшение активности холинэстеразы на 23% (Cd и Hg) и на 14% (Pb), причем в потомстве активность ХЭ была нормальной (Schmidt, Ibrahim, 1994). В гемолимфе куколок медоносных пчел *Apis mellifera* наблюдали угнетение свинцом

низко- и среднеподвижных форм белков. Оценка загрязненности свинцом проводилась по содержанию его в меде (Glinski, Grzegorczyk, 1995). М. Показано, что кадмий - один из самых токсичных металлов - стимулирует или ингибирует в зависимости от дозы активность ферментов в среднем кишечнике сверчка *Acheta domesticus* и мадагаскарского таракана *Gromphadorhina portentosa*. Сублетальные концентрации кадмия стимулируют активность карбоксилэстераз кишечника насекомых обоих видов (Nakonieczny et al., 1996). По данным В. Симонсена (1994), концентрация хлоридов тяжелых металлов, оказывающая визуальный эффект на зимограммы эстераз беспозвоночных животных, составила 1,0 x 10^{-2} - 5,0 x 10^{-2} М. Для меди и цинка значения близки для всех изученных видов (2,0 x 10^{-2} - 2,5 x 10^{-2} М), для кадмия наиболее чувствительными оказались эстеразы дождевых червей *Esenia fetida* (1,0 x 10^{-2} М). В 4 раза более устойчивыми оказались эстеразы коллембол *Folsomia candida* (4,0 x 10^{-2} М) и в 5 раз - изопод *Porcellio scaber* (5,0 x 10^{-2} М) (Simonsen, 1994).

Г.А.Урванцевой и Г.В.Фатичевой изучено влияние солей меди и свинца *in vivo* на активность форм кислой фосфатазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы личинок хирономид *Chironomus dorsalis* (Урванцева, Фатичева, 1988). Показано изменение спектра кислой фосфатазы под влиянием хлорида меди и нитрата свинца в концентрации 0,1 ПДК. Отмечено изменение подвижности и активности форм фермента в зависимости от концентрации соли и продолжительности ее действия. Полученные данные позволили авторам сделать вывод о том, что множественные формы кислой фосфатазы являются чувствительными маркерами на загрязнение вод тяжелыми металлами. Отмечены также существенные изменения активности форм глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы при воздействии солей меди и свинца.

Добавление кобальта к питательной среде при выращивании тутового шелкопряда приводило к росту активности кислой и щелочной фосфатаз, снижению содержания липидов и гликогена (Bhattacharyya, Medda, 1983), что, возможно, связано с активацией амилазы кобальтом и его соединениями (Хашимова, Ламм, 1984).

При анализе литературных данных установлено, что в основе антифидантного действия оловоорганических соединений лежит их способность ингибировать активность пищеварительных ферментов (амилазы, протеазы), причем инсектицид не оказывал влияния на ферменты, а угнетал физиологическую систему, ответственную за их синтез (Бутовский, 1985).

По-видимому, количественное соотношение основной массы белков в дифференцированных тканях и органах выполняющих определенную функцию не может быть сильно изменено без нарушения самой функции и поэтому защищено от экологических воздействий различными регуляторными механизмами. Однако известны так называемые адаптивные белки и пептиды (цитохром P_{450}, металлотионеины и др.), содержание которых четко реагирует на воздействие различных факторов среды, в т.ч. и ионов тяжелых металлов.

Белки теплового шока

Наличие белков теплового шока (Heat Shock Proteins, HSP) является одним из наиболее филогенетически зависимых и высоко консервативных генетических признаков (Lindquist, Craig, 1988). Различия между классами или видами могут быть) с высокой степенью достоверности выявлены с помощью белков HSP90 (90 кДа), HSP70 (70 кДа) или HSP60 (60 кДа). Все HSP имеют молекулярную функцию шаперонинов (Ellis, 1987) и HSP70 и HSP60 включены в белковый синтез (Ostermann et al., 1989; Beckmann et al., 1990). В клетках подвергнутых стрессу HSP72 - член семейства HSP70 восстанавливает денатурированные прерибосомальные комплексы и функции ядер (Welch, Feramisco, 1984). HSP60 играют важную роль в сборке белков в митохондриях (Cheng et al., 1989). HSP индуцируются не только теплом, но также и тяжелыми металлами (Sanders et al., 1991) и ксенобиотиками (Cochrane et al., 1989). Показано, что индукция HSP коррелирует с увеличением выживаемости

моллюсков в море (Boon-Niermeijer et al., 1986). Оба класса белков и HSP70 и HSP60 подходят в качестве потенциальных биомаркеров, поскольку они оба быстро индуцируются и являются высокоустойчивыми белками (Sanders, 1990). Для обнаружения HSP используют моноклональные антитела, иммунологическая кросс-реактивность найдена у различных видов животных для клонов HSP60 и HSP70 (Webb et al., 1990; Boog et al., 1992).

Анти-HSP антитела используют для изучения воздействия тяжелых металлов на индукцию HSP70 беспозвоночных (Kohler et al., 1992). Антитела, полученные к HSP60, использованы для изучения влияния меди на накопление HSP60 в мидии Mytilus edulis (Sanders et al., 1991).

Межвидовая вариабельность детоксикационных ферментов

Физиологическая система любого организма до некоторой степени приспособлена (преадаптирована) к инактивации ксенобиотиков. Способность регулировать внутреннюю среду является существенной в связи с тем, что не каждая молекула токсиканта вызывает негативный эффект и существует диапазон уровней воздействия, в рамках которого организм нормально функционирует (Depledge, 1989). Проявление негативных эффектов может рассматриваться как нарушение физиологического регуляторного механизма. Если это справедливо, то межвидовые различия в чувствительности к токсикантам по крайней мере частично должны быть связаны с различиями в активности или эффективности ферментов, вовлеченных в процесс переработки поступивших в организм химических соединений.

Вариабельность биотрансформации

В экотоксикологии значительное внимание уделяется изучению путей биотрансформации, поскольку они (1) очень важны для понимания действия ксенобиотиков и (2) в ряде случаев в результате биотрансформации наблюдается появление промежуточных продуктов, более токсичных, чем исходное соединение.

В последние годы значительно возрос объем информации по активности ферментов, связанных с реакциями детоксикации и интоксикации в связи с использованием их в качестве "биомаркеров" длительности воздействия и эффекта (Peakall, 1992). Причина состоит в том, что многие ферменты биотрансформации являются индуцированными, т.е. их активность может значительно возрасти в случае, если организм подвергается воздействию ксенобиотиков. Это индуцированное состояние указывает, что "что-то" происходит в окружающей среде (van Straalen, 1994).

Активность биотрансформационных ферментов не только связана с индукцией, но также является видоспецифической. Вариабельность биотрансформационных ферментов является существенным фактором для природной флоры и фауны, потому что она позволяет объяснить, почему некоторые виды чувствительнее других. Для беспозвоночных животных, хороший обзор вариабельности биотрансформационных ферментов до сих пор отсутствует.

Классическая работа Р. Кригера с соавт. (Krieger et al., 1971), проведенная на 35 видах чешуекрылых позволила предположить, что способность метаболизировать ксенобиотики лучше всего развита у гусениц-полифагов многих видов растений. У типичных монофагов активность была наименьшей. Возможно существование связи (эволюционно закрепленной) между эффективностью химической защиты беспозвоночных от аллелохимических соединений, вырабатываемых растениями, и способностью вырабатывать резистентность к ксенобиотикам, таким как инсектициды (Ronis, Hodgson, 1989). Это может частично объяснить тот факт, что развитие резистентности к инсектицидам часто протекает значительно быстрее у видов-вредителей, чем у их природных врагов. На рис. 4 приведены литературные данные по

активности трех детоксикационных ферментов у членистоногих с различной пищевой специализацией. Различия обнаруживаются также в стереоспецифичности фермента (цис/транс) эпоксидегидролазы.

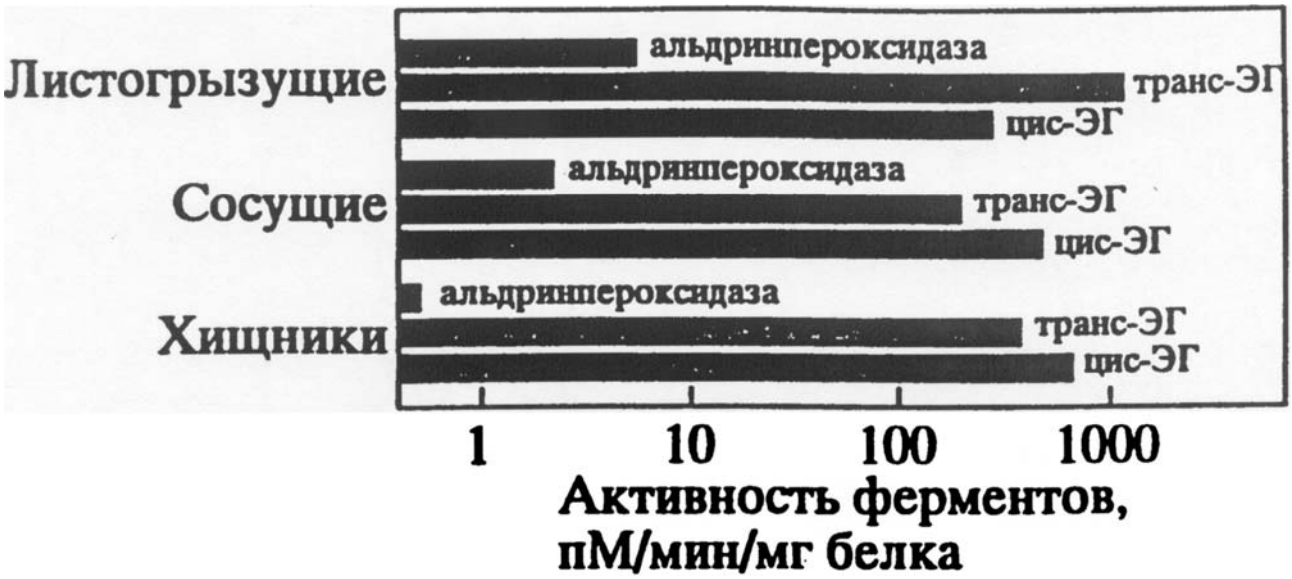

Рис. 4. Активность альдринпероксидазы, транс-эпоксидегидролазы (ЭГ) и цис-ЭГ у членистоногих с различной пищевой стратегией (по Krieger et al., 1971).

Фермент глутатион-S-трансфераза встречался у 71 из 72 изученных видов, относящихся к 9 различным таксонам (Stenersen et al.,1987). Его активность зависела от использованного субстрата. Трансферазная активность на модельном субстрате 1,2-дихлор-4-нитробензоле (ДХНБ) явно различалась у водных и наземных видов (рис. 5). Способность связывать ДХНБ вероятно была связана (помимо филогенетических ограничений), с характером местообитания видов: у групп вторично адаптированных к водной среде (водные жуки) уровень активности совпадает с активностью первично-водных групп и является более высоким по сравнению с их родственными наземными представителями.

Сравнительные исследования биотрансформации до сих пор не могут объяснить межвидовую вариабельность в чувствительности. Например, не установлено, действительно ли активность ферментов является необходимым зве-

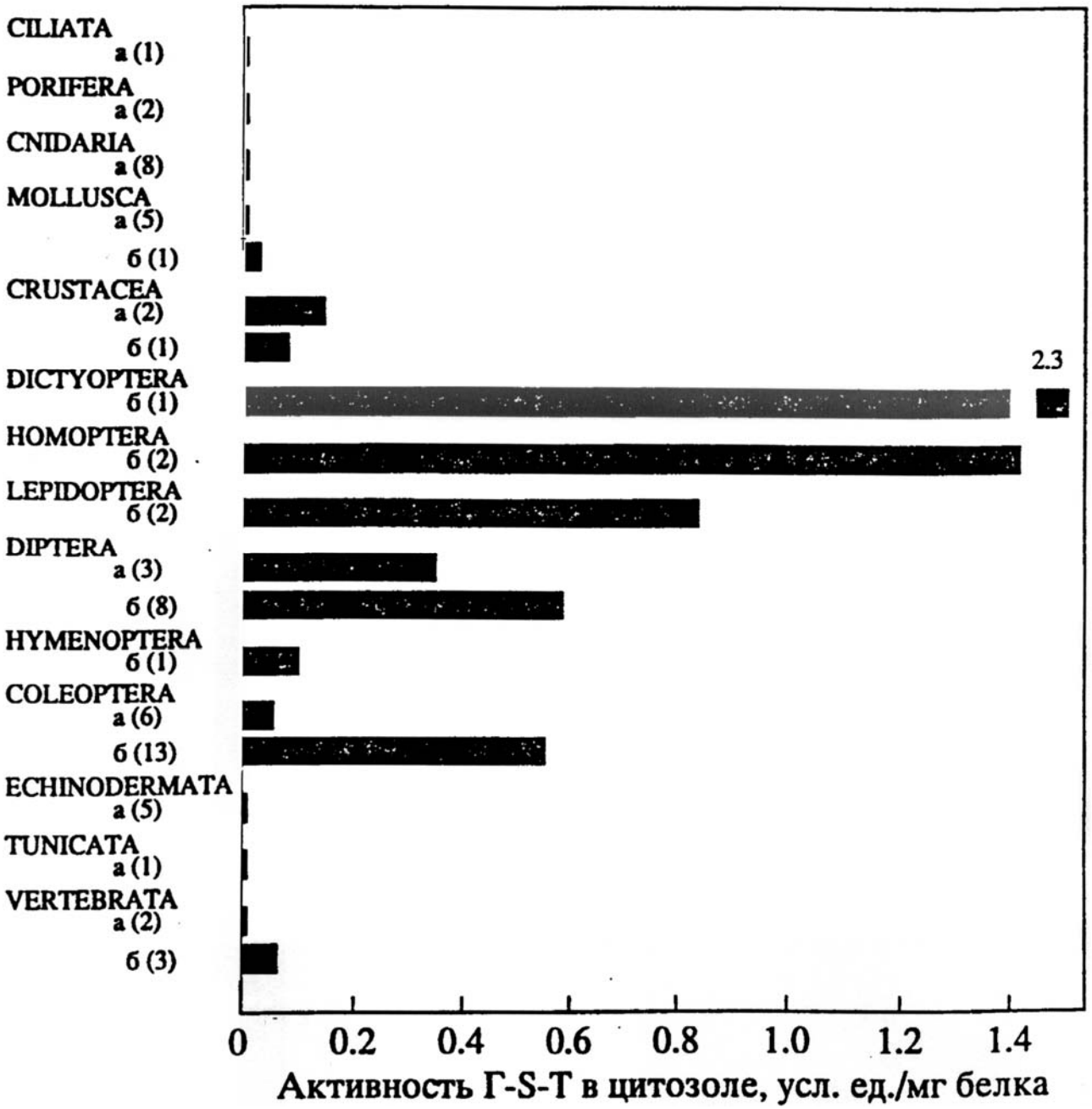

Рис. 5. Активность глутатион-S-трансферазы (GST) на субстрате 1,2-дтхлор-4-нитробензол в цитозоле, полеченном из целых животных (беспозвоночные) или из печени (позвоночные) относящихся к различным таксономическим группам. а – водные виды, б – наземные виды. В скобках – количество изученных видов (по Stenersen et al., 1987).

ном в детоксикации. Возможно, уровень активности является менее значимым по сравнению с вырабатываемым спектром метаболитов. Детальные исследования путей биотрансформации выявили их высокую сложность. Например, при сравнении метаболизма бенз(а)пирена (один из ПАУ) в различных представителях ракообразных, Winston с соавт. (1993) отметили, что общий уровень метаболизма, также как и относительный состав различных групп метаболитов (хиноны, фенолы и диолепоксиды) сильно зависели от природы кофакторного соединения, используемого для поддержки метаболизма при инкубации *in vivo*. Сравнительные исследования биотрансформации потенциально могут заложить реальную основу для объяснения межвидовых различий в чувствительности (van Straalen, 1994).

* * *

Вместе с тем следует отметить фрагментарность имеющихся данных, а также сложности с интерпретацией полученных результатов, которые при высоком разнообразии экотоксикологических реакций, связанной с вариабельностью детоксикационных ферментов, путей биотрансформации и накопления, не позволяют пока использовать отмеченные нарушения в качестве надежных биомаркеров загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами.

Литература

Бутовский Р.О. Оловосодержащие соединения и энтомофауна // Агрохимия. 1985. Т 3. С. 124-134.

Бутовский Р.О. Устойчивость комплексов почвообитающих членистоногих к антропогенным воздействиям.М.: Издательство День серебра. 2001. 322 с.

Еремина О.Ю. Изыскание новых фосфорорганических синергистов пиретроидов и исследование механизмов их действия / Автореф. докт. дисс. С-Пб. 1996. 35 с.

Еремина О.Ю., Баканова Е.И., Рославцева С.А. и др. Изучение чувствительности эстераз представителей отряда тараканов к фосфорорганическим соединениям разного строения // Ж. эволюц.биохим. и физиологии РАН. 1992. Т.28. N 3. С. 311-317.

Покаржевский А.Д. Геохимическая экология наземных животных. М.: Наука, 1987. 298с.

Рославцева С.А. Резистентность к инсектоакарицидам членистоногих, имеющих эпидемиологическое и санитарно-гигиеническое значение. М.: Компания Спутник+, 2006. 130 с.

Урванцева Г.А., Фатичева Г.В. Влияние некоторых солей тяжелых металлов на активность кислой фосфатазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы личинок хирономид / Тяжелые металлы в окружающей среде и охрана природы // Матер. 2-й всесоюзной конфер. 28-30 декабря 1987 г. М. 1988. Ч. 2. С. 382-385.

Хашимова М.А., Ламм Г.Я. Влияние неорганической соли кобальта и ее координационных соединений на активность амилазы в гемолимфе тутового шелкопряда // Шелк (Ташкент). 1984. N 5. С. 12-13.

Andrews G.K., Huet-Hudson Y.M., Paria B.C. et al. Metallothionein gene expression and metal regulation during pre-implantation mouse embryo development // Develop. Biol. 1991. V.145. P. 13-27.

Arbeidsrapport fra Miljostyrelsen. Soil Quality Criteria for selected inorganic compounds. (Scott-Fordsmand J.J., Pedersen M.B. eds.) NERI. Dept. of Terrestrial ecology. 1995a. N 48. 200 pp.

Beckmann R.P., Mizzen L.A., Welch W.J. Interaction of HSP70 with newly synthesized proteins: implications for protein folding and assembly // Science. 1990. V. 248. P 850-854.

Bhattacharyya A., Medda A.K. Histochemical studies on the effects of cyanocobalamin and cobalt chloride on the alkaline and acid phosphatase activity in silk gland of silkworm (Bombyx mori L.), race Nistari // Zool. Jahrb. 1983. V. 110. P.403-410.

Boog C.J.P., de Graeff-Meeder E.R., Lucassen M.A. et al. Two monoclonal antibodies generated against human HSP60 show activity with synivial membranes with juvenile chronic arthritis // J. Exp. Med. 1992. V. 175. P.1805-1810.

Boon-Niermeijer E.K., Tuyl M., van der Scheur H. Evidence for two states of thermotolerance // Int. J. Hyperthermia. 1986. V. 2. P. 1805-1810.

Bremner I., Beattie J.H. Metallothionein and the trace minerals // Ann. Rev. Nutr. 1990. V. 10. P. 63-83.

Broman D., Naf C., Lundberg I., Zebuhr Y. An *in situ* study on the distribution, biotransformation and flux of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in and aquatic food chain (*Seston-Mytilus edulus-Somateria mollisima*) from the baltic: an ecotoxicological perspective // Env. Toxicol. and Chemistry. 1990. V 9. P. 429-442.

Butovsky R.O., Verhoef S.C.,.Zaitsev A.S, van Straalen N.M. Heavy metals in different invertebrate groups as related to soil contamination // In:Pollution-induced changes in soil invertebrate foodwebs. Volume 2. (R.O.Butovsky, N.M.van Straalen eds.) Report No. D99017. Vrije Universiteit. Amsterdam.1999. P. 117-129.

Cheng M.Y., Hartl F.U., Martin J. et al. Mitochondrial heat shok protein HSP60 is essential for assembly of proteins imported into yeast mitochondria // Nature. 1989. V. 377. P. 655-659.

Clements W.H., Oris J.T., Wissing T.E. Accumulation and food-chain transfer of fluoranthene and benzo(a)pyrene in *Chironomus riparius* and *Lepomis macrochirus* // Arch. Env. Contam. and Toxicol. 1994. V 26. P. 261-266.

Clubb R.W., Lords J., Gaufin A. Isolation and characterisation of a glycoprotein from stonefly, *Pteronarcys californica*, which binds cadmium // J. Insect Physiol. 1975. V. 21. P. 53-60.

Depledge M. The rational basis for detection of early effects of marine pollutants using physiological indicators // Ambio. 1989. V. 18. P. 301-302.

Dohi Y., Ohba K., Yoneyama Y. Purification and molecular properties of two cadmium binding glycoproteins from the hepatopancreas of a whelk, *Buccinum tenuissimum* // Biochem. Biophys. Acta. 1983. V. 745. P.50-60.

Fowler B.A., Hildebrand C.E., Kojima Y., Webb M. Nomenclature of metallothionein // Experienta Suppl. 1987. V. 52. P.19-22.

Gile J.D., Collins J.C., Gilet J.W. Fate and impact of wood preservatives in a terrestrial microcosm // J. Agric. Food and Chemistry. 1982. V 30. P. 295-301.

Glinski Z., Grzegorczyk K. Haemolymph proteins of the honeybee pupae (Apis mellifera L.) from apiaries differing by the level of pollution with heavy metals // Annales univ. Mariae Curie-Sklodowska. Lublin. Polonia. Sectio DD. 1995. V. 50. P. 241-248.

Gruttke H., Kratz W., Weigmann G., Haque A. 1988. Terrestrial model food chain ^{14}C pentachlorphenate between springtails and carabids. Ecotoxicol. And Env. Safety. 15: 253-259.

Haque A., Gruttke H., Kratz W., Kielhorn U., Weigman G., Meyer G., Bornkamm R., Schuphan I., Ebing W. 1988. Environmental fate and distribution of sodium-^{14}C-pentachlorophenate in a section of urban wasteland ecosystem. The Sci. And Total Env. 68: 127-139.

Holoubek I., Houskova L., Seda Z. Project Tokoen. The fate of selected organic compounds in the environment – IV soil. Earthworms and vegetation // Toxicol. And Env. Chemitsry. 1990. V 29. P. 75-83.

Hopkin P.S. Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science Publishers Ltd. 1989. 366 p.

Janssen M.P.M. Turnover of cadmium through soil arthropods. PhD Thesis. Amsterdam: Vrije Universiteit, 1991. 136 p.

Joosse, E.N.G. , Buker, J.B.; Uptake and excretion of lead by litter-dwelling *Collembola*. Environmental Pollution. 1979. V. 18. 235-239.

Kagi J.G.R., Schaffer A. Biochemistry of metallothionein // Biochem. 1988. V. 27. P.8509-8515.

Kohler H.-R., Triebskorn R., Stocker W. et al. The 70 kD heat shock protein (hsp70) in soil invertebrates: a possible tool for monitoring environmental toxicants // Arch. Environm. Contam. Toxicol. 1992. V.22. P. 334-338.

Krieger R.I., Feeney P.P., Wilkinson C.F. Detoxication enzymes in the guts of caterpillars: an evolutionary answer to plant defenses? // Science. 1971. V. 172. P.579-580.

Lemaire P., Lemaire-Gony S., Berhaut J., Lafaurie M. The uptake, metabolism and biological halflife of benzo(a)pyrene administered by forcefeeding in sea bass // Ecotox. Environ. Safety. 1992. V 23. P. 244-251.

Lindquist S., Craig E.A. The heat shock proteins // Ann. Rev. Gen. 1988. V. 22. P. 631-677.

Lu P-Y., Metcalf R.L., Cole L.K. 1978. The environmental fate of ^{14}C-pentachlorphenol in laboratory model ecosystems. In: In: Pentachlorphenol. Chemistry, Pharmacology and Environmental Toxicol. Eds. Rao K.R. Plenum Press. N.Y. P. 53-63.

Luce M.C., Schyberg J.P., Bunn C.L. Metallothionein expression and stress response in aging human diploid fibroblasts // Expl. Gerontol. 1993 V. 28. P.17-38.

Marczyk G., Migula P., Trzcionka E. Physiological responses of spiders to environmental pollution in the Silesian Region (Southern Poland) // Sci. Total Environ. Elsvier Science Publishers B.V., Amsterdam. Supp. 1993. V. 2. P. 1315.

McElroy A.E., Sisson J.D. Trophic transfer of benzo(a)pyrene metabolites between benthic marine organisms // Marine Env. Res. 1989. V 28. P. 265-269.

Nakonieczny M., Kedziorski A., Swierczck L., Gmresiak M. The influence of cadmium and selenium on developmental activity pattern of carboxylesterases in hemimetabolous insects / XX Int. Congr. Entomol. Firenze, Italy, August 25-31, 1996. 1996. 19-087.

Neff J.M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. 1979. Applied Science Publ. London.

Ostermann J., Horwich A.L., Neupert W., Hartl F.U. Protein folding in mitochondria requires complex formation with HSP60 and ATP hydrolysis // Nature 1989. V. 341. P. 125-130.

Pathirana S., Connell D.W., Wowles P.D. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an urban roadway system // Ecotoxicol. And Env. Safety. 1994. V 28. P. 256-269.

Peakall D. Animal biomarkers as pollution indicators. Chapman & Hall, London. 1992.

Petering D.H., Goodrich M., Hodgman W. et al. Metal binding protein and peptides for the detection of heavy metals in aquatic organisms / Biomarkers of environmental contamination. Eds. McCarthy J.F., Shugart L.R. CRC Press Inc., Florida, USA. 1990. P.239-254.

Reichert W.L., Eberhart B.L., Varanasi U. Exposure of two species of deposit-feeding amphipods to sediment-associated H3-benzo(a)pyrene: uptake, metabolism and covalent binding to tissue macromolecules // Aquatic Toxicol. 1985. V 6. P. 45-56.

Rhett R.G., Simmers J.W., Lee C.R. *Eisenia foetida* used as a biomonitoring tool to predict the potential bioaccumulation of contaminants from contaminated dredged material. In: Earthworms in waste and environmental management. Eds. Edwards C.A., E.F. Neuhauser. SPB Academic Publishing. 1988. Hague NL.. P. 321-328.

Ronis M.J.J., Hodgson E. Cytochrome P-450 monooxygenases in insects // Xenobiotica. 1989. V. 19. P. 1077-1092.

Sanders B.M., Martin L.S., Nelson W.G. et al. Relationship between accumulation of 60kDa stress protein and scope-for-growth in Mytilus edulis exposed to a range of copper concentrations // Mar. Environm. Res. 1991. V. 31. P.81-97.

Schmidt G.H., Ibrahim N.M. Heavy metal content (Hg^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}) in various body parts: its impact on cholinesterase activity and binding glicoproteins in the grasshopper Aiolopus thalassinus adults // Ecotoxicol. and Environ. Safiety. 1994. V. 29. N 2. P. 148-164.

Simonsen V. BIOPRINT. Second technical report. EC Environmental research programme / Ed. J.E.Kammenga. Wageningen Agriculture Univ. Netherlands. 1994. P.21-23.

Southworth G.R., Beauchamp J.J., Schmieder P.K. Bioaccumalation potential of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Daphnia pulex* // Water Res. 1978. V 12. P. 973-977.

Stenersen J., Kobro S., Bjerke M., Arend U. Glutathione transferases in aquatic and terrestrial animals fron nine phyla. Comp. Biochem. Physiol. 1987. V. 86C. P.73-82.

Van Brummelen T.C., Verweij R.A., van Straalen N.M. Determination of benzo(a)pyrene in isopods (*Porcelio scaber*) exposed to contaminated food // Comp. Pharmacol. And Toxicol. 1991. V 100. P. 21-24.

Van Capelleveen H.E. Ecotoxicity of heavy metals for terrestrial isopods. 1987. PhD Thesis. Amsterdam. Vrije Universiteit. 104 pp.

Van Gestel C.A.M., Ma W. 1988. Toxicity and bioaccumulation of chlorophenols in earthworms in relation to bioavailability. Ecotoxicol. And Env. Safety. 15: 289-297.

Van Hattum A.G.M. Bioaccumulation of sediment bound contaminants by the freshwater isopod *Asellus aquaticus L*. PhD Thesis. 1995. Vrije Universiteit. Amsterdam.

Van Straalen N.M. Biodiversity of ecotoxicological responses in animals // Netherlands J. of Zoology. 1994. V. 44. N 1-2. P.112-129.

Van Straalen N.M., van Wensem J. Heavy metal content of forest litter arthropods as related to body-size and trophic level // Environm. Pollut. 1986. V 42. Ser. A. N 3. P. 209-221.

Van Straalen, N.M. Burghouts. T.B.A.. Doornhof, M.J., Groot, G.M., Janssen, M.P.M., Joosse, E.N.G., Van Meerendonk. J.H., Theeuwen J.P.J.J., Verhoef, H.A. & Zoomer, H.R. Efficiency of lead and cadmium excretion in populations of *Orchesella cincta* (Collembola) from various contaminated forest soils. Journal of Applied Ecology 1987. 24, 953-968.

Webb R., Reddy K.J., Sherman L.A. Regulation and sequence of the Synechococcus sp. strain PCC 7942 groESL operon, encoding a cyanobacterial chaperonin // J. Bacteriol. 1990. V. 172. P. 5079-5088.

Welch W.J., Feramisco J.R. Nuclear and nucleoar localisation of the 72,000 dalton heat shock protein in heat chocked mammalian cells // J. Biol. Chem. 1984. V. 259. P. 4501-4513.

Wilczek G., Majkus Z., Migula P., Bednarska K., Swierczek E. Heavy metals and detoxifying enzymes in spiders from coal and metallurgic dumps near Ostrava (Czech Republic) // Proc. 16th Europ. Coll. Arachnol., Siedlce. 1997. P. 317.

Wilczek G., Migula P. Metal body burdens and detoxifying enzymes in spiders from industrially polluted areas // Fresenius J. Anal. Chem. 1996. V. 354. P. 643.

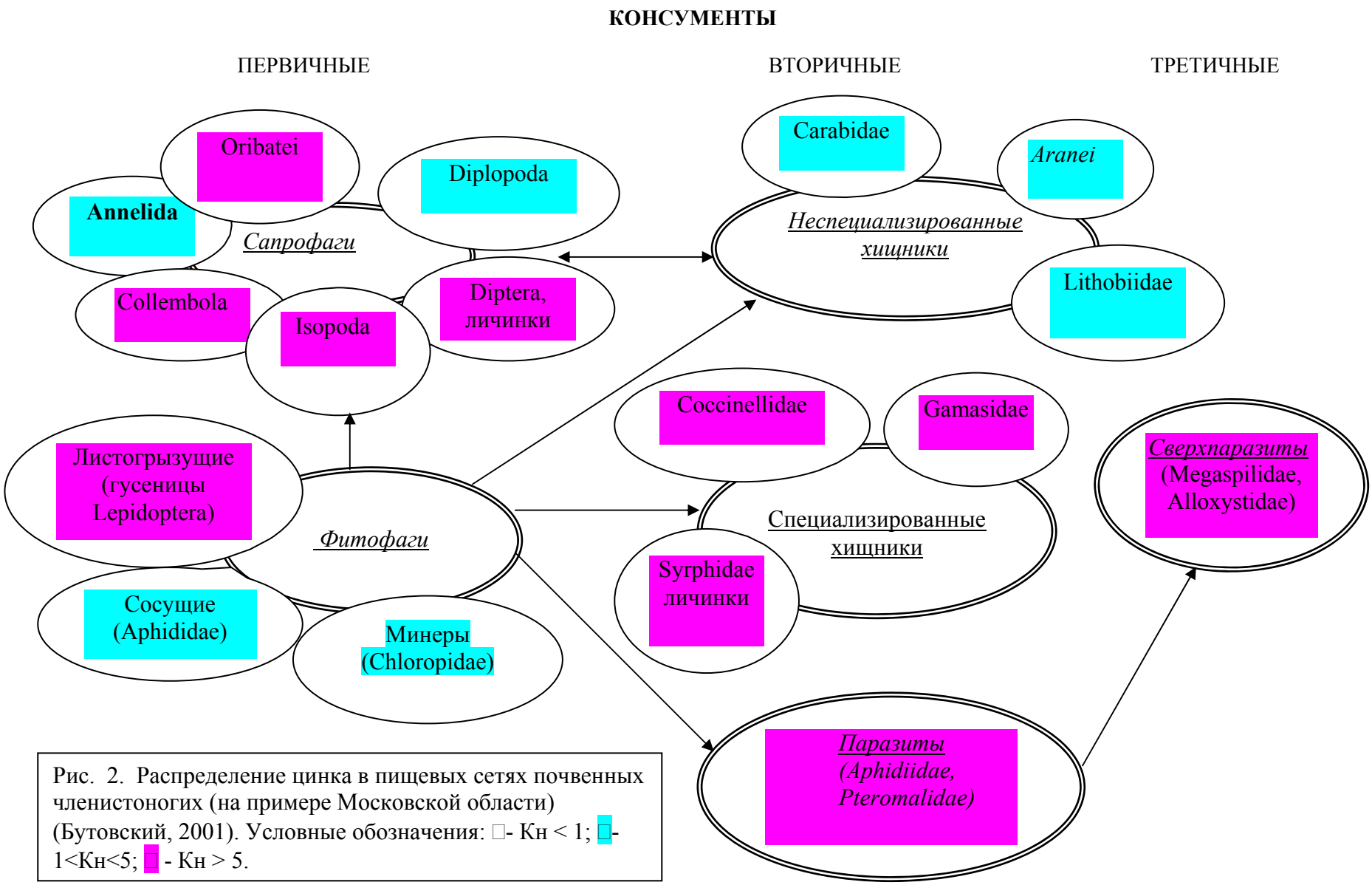

Рис. 2. Распределение цинка в пищевых сетях почвенных членистоногих (на примере Московской области) (Бутовский, 2001). Условные обозначения: □- Кн < 1; □- 1<Кн<5; □ - Кн > 5.